

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-007553

(43)Date of publication of application : 13.01.1998

(51)Int.Cl.

A61K 31/195
A23L 1/30
A23L 1/305
A61K 31/355
A61K 31/375
A61K 31/415
A61K 35/58

(21)Application number : 09-064348

(71)Applicant : TOUTOUSHIYU SEIZO KK

(22)Date of filing : 18.03.1997

(72)Inventor : ITO TADAO
WADA KOICHIRO

(30)Priority

Priority number : 08 64021 Priority date : 21.03.1996 Priority country : JP

(54) IN VIVO RADICAL SCAVENGER AND ANTIULCER AGENT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To prepare an in vivo scavenger, comprising cystathionine and taurine, having high persistence in a low dose in spite of the manifestation of excellent radical scavenging actions and effective in treating arteriosclerosis, etc.

SOLUTION: This in vivo radical scavenger consists essentially of cystathionine and taurine and is preferably prepared by mixing one or plural kinds of serine, glutamic acid, glutamine, glycine, alanine, β -aminoisobutyric acid and carnosin, etc., therewith.

Furthermore, the cystathionine and taurine specifically contained in Agkistrodon blomhoffii are effective and, e.g. an extract thereof obtained by extracting the Agkistrodon blomhoffii with water in an amount of 10 times based on the weight of the Agkistrodon blomhoffii (live) at 70°C for 120min, cooling the resultant mixture, then removing the Agkistrodon blomhoffii by filtration and vacuum concentrating the filtrate until a desired concentration attains is preferably used.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 10.03.2004

[Date of sending the examiner's decision of

Best Available Copy

rejection]

[Kind of final disposal of application other
than the examiner's decision of rejection or
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against
examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] this invention -- a pit viper -- an extract or cystathionine, and a taurine are used as a principal component, and it is related with the matter which does so a radical elimination operation and an antiulcer action effectively in the living body.

[0002]

[Description of the Prior Art] A radical means the active oxygen which has an unpaired electron one or more than it. While active oxygen plays a role important for removal of a virus or a cancer cell in the living body, the superfluous generation attacks the film and an organization and induces various diseases. Arteriosclerosis, cerebral infarction, a brain ischemia-reperfusion failure, a digestive system ischemia-reperfusion failure, an ulcer, a malignant tumor, the gun from chemical property, paraquat intoxication, diabetes mellitus, epilepsy, aging, etc. are reported as the symptoms considered that a current radical involves and a disease.

[0003] A living body has SOD (superoxide dismutase) as a specific enzyme which eliminates the super oxide which is the first radical generated. Therefore, as an elimination agent of a radical, clinical application of SOD pharmaceutical preparation or a related substance (Japanese Patent Application No. 2-75805) has been considered from the former.

[0004] However, there were that internal use is impossible in SOD pharmaceutical preparation and that a half-life in the living body is several minutes in vein administration, there being possibility of an anaphylactic shock, and a fault that generating of a hydrogen peroxide always followed in elimination of super oxide further.

[0005] Then, paying attention to the cystathionine which is the matter in the living body, invention-in-this-application persons could administer orally, they acted, without there being no worries about an anaphylactic shock etc., and generating other radicals, and have proposed the radical elimination agent and the antiulcer drug that a half-life in the living body is longer than SOD (JP,8-169822,A).

[0006]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] Thus, although cystathionine has the operation which was excellent as compared with other radical elimination agents, such as SOD pharmaceutical preparation, in order to eliminate a radical effectively, it requires a lot of administration.

[0007] However, industrial mass production method is difficult for cystathionine, and is very expensive. On the other hand, as mentioned above, it is desirable [a radical] only as a remedy that it can take in daily as a prophylactic in order to participate in various diseases.

[0008] Therefore, although the dose was pressed down low, the food which has durability and has a cheap and safe radical elimination agent, antiulcer drug, or such effectiveness was called for.

[0009]

[Means for Solving the Problem] In ancient times, a pit viper is independent more, or the ** agent of it was carried out to other Chinese orthodox medicine, and it is daily used widely for blood supplement and nourishment, and the strong purpose.

[0010] Invention-in-this-application persons offer a radical elimination agent, antiulcer drug, etc. with which durability consists of high cystathionine and a high taurine with a low dose, though the outstanding radical elimination operation is done so paying attention to the cystathionine and the taurine which are specifically contained in a pit viper doing so a radical elimination operation and an

antiulcer action in having two incomes.

[0011] furthermore -- everyday -- intake -- it can do -- a cheap and safe pit viper -- an extract or a pit viper -- the food which has the radical elimination agent and food additive which consist of desiccation powder, food, antiulcer drug, etc. is offered.

[0012]

[Embodiment of the Invention] the cystathionine concerning this invention and a taurine, or a pit viper -- a radical elimination operation of an extract and an antiulcer action are explained to a detail based on the following examples of an experiment.

[0013] Experiment 1 Elimination operation over the super oxide of the xanthin-xanthine oxidase (X-XOD) system origin (cypridina luciferin derivative (MCLA) law)

If a xanthin (X) is added to xanthine oxidase (X-XOD), super oxide will be generated in proportion to the concentration of a xanthin. The generated super oxide can express the amount of super oxide as an amount of a photon by the chemistry fluorescence intensity of MCLA (2-methyl-6 [p-methoxyphenyl]-3 and 7-dihydroimidazo[1 and 2-alpha] pyrazin-3-one hydrochloride) which is a super oxide reaction fluorescence reagent.

[0014] Xanthin 30microM is added and super oxide is made to generate under xanthine oxidase (10 mU/ml) existence. In this system, the case where mixed the case where only a taurine is added, cystathionine, and a taurine and it added was compared, and the relation between the amount of the added cystathionine and a taurine and the amount of super oxide was shown in drawing 1.

[0015] the amount of the super oxide at the time of adding cystathionine to a taurine, when it was based on the condition (taurine 1mM-10mM) of having added only the taurine, as shown in drawing 1 -- all -- the amount of super oxide was decreased in the mixing ratio (taurine + cystathionine).

[0016] Experiment 2 The gastric-mucosa tissue failure defense operation ischemia-reperfusion injury at the time of ischemia-reperfusion injury is a cell trauma newly produced at the time of the reperfusion of a blood flow after the fall of a blood stream. The re-supplied oxygen turns into active oxygen (radical) from blocking of a blood flow, the peroxidation reaction of the phospholipid which exists in a cell membrane is caused continuously, and the mechanism generates peroxy lipid. This peroxy lipid is a thing of making a cell result in a trauma directly or indirectly. The trauma by the radical is common in all biomembranes, and when the trauma attains to a gastric-mucosa cell, it produces a sore and an ulcer.

[0017] this experiment -- a pit viper -- the radical elimination operation and antiulcer action are clarified by showing a gastric-mucosa trauma defense operation of the rat by ischemia-reperfusion in an extract list about the mixture of cystathionine and a taurine.

[0018] After the animal in this experiment made an incision in the abdomen the wistar system male rat (10 weeks old, 280-300g) of a fast under pentobarbital anesthesia for 18 hours and exposed the celiac artery, clipping of it was carried out for 30 minutes, and it was made into the condition of the ischemia. After removing and carrying out reperfusion of the clamp for 60 minutes after that, the blood removal fatal pyloric stomach was extracted and the rat acute gastric mucosal lesion model was produced. The ischemia condition for 30 minutes pasted up the laser blood flow meter (BRL-100) by the biotechnology research center company on the stomach chorion side, and checked it by measuring a blood flow. Change of the blood flow before and behind a clamp is shown in drawing 2. By clamping, as shown in drawing 2, the blood stream fell and the blood stream was recovered by removing a clamp. Therefore, the condition of ischemia-reperfusion was reproduced certainly. About this rat acute gastric mucosal lesion model, the measurement and condition observation of gastric mucosa by image analysis of organization trauma area were performed.

[0019] beforehand -- each rat group -- the pit viper of one quantum each -- after administering an extract, cystathionine and a taurine, cystathionine, and sucralfate orally, respectively, said acute gastric mucosal lesion model was created. It experimented [sucralfate / which is a gastric-mucosa protective agent as a control drug] in parallel about the cystathionine to which clear [of already having a radical elimination operation by artificers further] is carried out.

[0020] drawing 3 -- a pit viper -- a gastric-mucosa trauma defense operation of an extract is shown.

[0021] the pit viper in this application -- 10 times as many water as this extracts 70 degrees C of extracts for 120 minutes to the weight of a pit viper (raw), and they remove a pit viper by filtration after cooling. Vacuum concentration is carried out and it obtains until it becomes the concentration

of a request of it. It condensed until weight was set to one sixth in this experiment. on the other hand -- a pit viper -- powder -- a pit viper -- it freeze-dries (water content 0.005 below %), and the whole is used as powder.

[0022] a pit viper -- the class and content of amino acid which are mainly contained are shown in Table 1 about an extract based on an amino-acid-analysis result.

[0023]

[Table 1]

マムシ (*Agkistrodon blomhoffii*) 中のアミノ酸組成

	$\mu\text{mol s/g (wt)}$
シスタチオン	14.48
タウリン	35.741
セリン	3.99
グルタミン酸	4.86
グルタミン	1.21
グリシン	4.08
アラニン	2.33
β -アミノイソバチラミン	1.45
カルノシン	8.62

Sifur Amino Acids,8:35-42

a pit viper -- administration of an extract -- a pit viper -- the Extract (Extract1g used in this experiment -- pit viper -- equivalent to 6g of individuals) undiluted solution, the 3 time diluent, and the 10 time diluent were performed to anesthesia initiation 10 quota by taking orally so that it might become a rat with 1 g/kg. Sucralfate prescribed kg for the patient as suspension in 100mg /. The gastric-mucosa tissue trauma area measured by image analysis was shown in drawing 3 about each sample dose.

[0024] the case where it administers orally by the cystathionine independent when it injects intraperitoneally by the cystathionine independent to drawing 4 -- a pit viper -- the gastric-mucosa tissue trauma area at the time of administering an extract orally was shown on the basis of the amount of cystathionine. the pit viper used in this experiment -- the cystathionine content of an extract was about 19.31mg/g.

[0025] moreover -- drawing 5 -- a pit viper -- the photograph of the preparation in which the depressor effect of the gastric-mucosa tissue trauma at the time of prescribing an extract for the patient is shown is shown.

[0026] it is shown in drawing 3 -- as -- a pit viper -- although reduction of gastric-mucosa trauma area was not accepted compared with check criteria in 10 times many extract [as this] dilution, significant effectiveness was shown in the undiluted solution and the 3 time diluent. The remarkable effectiveness of pressing down low the gastric-mucosa trauma area from the case where a cystathionine (6mg) independent is administered orally by diluted solution (the amount of cystathionine of 6mg) 3 times as especially drawing 4 shows is shown. It can be called advantageous effectiveness to do significant effectiveness so by internal use in order to take in daily. moreover, the acute gastric mucosal lesion model which is check criteria as drawing 5 -- comparing -- a pit viper -- the gastric-mucosa tissue of a rat which prescribed the extract for the patient does not almost have bleeding, either, and showed the operation excellent in gastric-mucosa tissue trauma defense.

[0027] experiment 3 the pharmacology moving state in plasma -- a pit viper -- the half-life of the cystathionine contained in an extract in the living body was compared with the half-life in the living body at the time of prescribing a medicine for the patient by the cystathionine independent. a pit viper -- cystathionine independence since the taurine other than cystathionine is included characteristic in an extract, and a pit viper -- it compared with the extract list in cystathionine and taurine mixture.

[0028] This experiment compared concentration change of the cystathionine elimination rate in plasma, and the cysteine metabolized using the rat. The metabolic turnover concentration of a cysteine was measured here because cystathionine was metabolized by the cysteine by cystathionine gamma lyase in in the living body.

[0029] In this experiment, the male wistar system rat was made to abstain from food, and it used. To a rat only cystathionine Mixture (100 mg/kg, cystathionine 100mg/kg, and taurine 100mg/kg), a pit viper -- extract 5.18 g/kg (the amount of content cystathionine of 100mg) -- each -- Medicate intraperitoneal and it collects blood after [15, 30, and 60,120,240] administration and 480 minutes. Centrifugal separation (for 3500rpm and 20 minutes) of the blood serum was carried out, 0.6ml of sulfo salicylic acid was mixed into 0.2ml of these blood serums 2%, centrifugal separation (for 4000rpm and 20 minutes) was carried out to them, and the amino acid of 0.4ml of supernatant liquid was measured with the 835 mold Hitachi high-speed amino acid analyzer. Date analysis of a pharmacology moving state was performed with the nonlinear least square method.

[0030] it is shown in drawing 6 -- as -- the biological half-life of cystathionine independent administration -- 71.2 **12.5 minutes, and a pit viper -- in extract administration, in the case of the mixture of cystathionine and a taurine, it was 4.12 **0.82 hours for 4.14 **0.52 hours. thus, a pit viper -- cystathionine and taurine mixture stop in long duration the living body at an extract list, and the cysteine metabolized from cystathionine also maintains high concentration continuously. This effectiveness enables it to continue maintaining highly a radical elimination operation in the living body by prescribing a medicine for the patient continuously daily, even if it is little administration.

[0031] It comes to mix with the auxiliary component on the pharmaceutical preparation of a liquid or a solid-state, for example, an excipient, a binder, a diluent, etc., and the radical elimination agent in the living body and antiulcer drug concerning this invention can prescribe a medicine for the patient taking-orally-wise and parenterally with the dosage forms of arbitration, such as powder, granulation, a tablet, a capsule, and injections.

[0032] On the other hand, in order to take in daily, in the gestalt of powder, a tablet, or a liquid, it uses as various food additives, and also the food which has a radical elimination operation can be blended with fish flour, noodles, health tea, confectionary, drug effect alcohol, etc., and can be offered as a product about various food.

[0033] a pit viper -- although the dose of an extract is suitably fluctuated according to age, weight, a symptom, etc., in taking orally, it converts into a cystathionine content by adult (60kg), and 40mg - about 80mg per is desirable, and about 60mg is usually prescribed for the patient day. When taking as prevention daily, 10mg - about 50mg is sufficient. having expressed as an amount of cystathionine here -- a pit viper -- an extract is because the cystathionine content changes remarkably with individual difference of a pit viper. a pit viper -- the case where a medicine is prescribed for the patient as an extract -- the pit viper -- it is desirable to set up intake as a food additive a pit viper -- as an extract -- as food -- corresponding to the cystathionine content and its intake mode of an extract.

[0034] the cystathionine used as the active principle of the radical elimination agent concerning this invention, and a pit viper -- the result of the acute toxicity test which an extract does not almost have toxicity and used the mouse is as follows.

[0035]

It is a route of administration as a result of the acute toxicity test of cystathionine. : fifty percent lethal dose Taking orally : More than 10 mmol/kg (2200mg/(kg)) Intraperitoneal : more than 10 mmol/kg (1250 mg/kg) -- a pit viper -- the result of the acute toxicity test of an extract -- route of administration : fifty percent lethal dose Taking orally : 2800 or more mg/kg intraperitoneal : Using the DDY system male mouse (weight of 35-40g), about internal use and intraperitoneal administration, the 1300 or more mg/kg book acute toxicity test performed observation for after [administration] 14 days (112H), and calculated fifty percent lethaldosemmol/kg (mg/kg). Although indicated as a fifty percent lethal dose value here, as for the mouse which actually died during observation, one animal was not able to check both experiments, either.

[0036]

[Effect of the Invention] Since cystathionine is the matter in the living body, it is the outstanding radical elimination agent that it is combinable with the radical elimination agent of other arbitration from that there are no worries about toxicity, an anaphylactic shock, etc., that a ***** and

internal use are possible for a half-life in the living body, and not generating a new radical.

[0037] Though the radical elimination operation which was excellent in cystathionine is done so, the invention in this application begins a taurine, acts in multiplication with the amino acid contained in pit vipers, such as a serine, glutamic acid, a glutamine, a glycine, an alanine, beta amino iso butyric acid, and carnosine, and offers the food which has the radical elimination agent which excelled cystathionine in durability, antiulcer drug, radical elimination, and an antiulcer action.

[0038] Moreover, a dose is low pressed down by the durability, and it is cheap and safe and can take in daily as food as a medicine.

[0039] It was thought that the number of illnesses with which a radical involves increased further, and the class has attained to even the everyday thing which cannot be said as illnesses, such as aging. This application does so the advantageous effectiveness that the trauma in which a radical carries out induction can be prevented or defended in everyday eating habits as compared with administration of only cystathionine pharmaceutical preparation.

[Translation done.]

*** NOTICES ***

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] The radical elimination agent which consists of cystathionine and a taurine.

[Claim 2] The radical elimination agent which makes cystathionine and a taurine an active principle.

[Claim 3] The radical elimination agent which uses cystathionine and a taurine as a principal component, and comes to mix one kind or two or more kinds in a serine, glutamic acid, a glutamine, a glycine, an alanine, beta amino iso butyric acid, and carnosine.

[Claim 4] cystathionine and a taurine -- a principal component -- carrying out -- a serine, glutamic acid, a glutamine, a glycine, an alanine, beta amino iso butyric acid, carnosine, superoxide dismutase pharmaceutical preparation, and vitamin C -- a relative -- a compound and vitamin E -- a relative -- a compound and a cysteine -- a relative -- a compound, reduced glutathione, peroxidase pharmaceutical preparation, and the radical elimination agent [claim 5] in the living body characterized by adding one kind or two or more kinds in a crude drug cystathionine and a taurine -- a principal component -- carrying out -- a serine, glutamic acid, a glutamine, a glycine, an alanine, beta amino iso butyric acid, carnosine, superoxide dismutase pharmaceutical preparation, and vitamin C -- a relative -- a compound and vitamin E -- a relative -- a compound and a cysteine -- a relative -- the food additive which one kind or two or more kinds in a compound, reduced glutathione, peroxidase pharmaceutical preparation, and a crude drug are added, and has a radical elimination operation in the living body.

[Claim 6] Antiulcer drug which consists of cystathionine and a taurine.

[Claim 7] Antiulcer drug which contains cystathionine and a taurine as an active principle.

[Claim 8] Antiulcer drug which uses cystathionine and a taurine as a principal component, and comes to mix one kind or two or more kinds in a serine, glutamic acid, a glutamine, a glycine, an alanine, beta amino iso butyric acid, and carnosine.

[Claim 9] cystathionine and a taurine -- a principal component -- carrying out -- a serine, glutamic acid, a glutamine, a glycine, an alanine, beta amino iso butyric acid, carnosine, superoxide dismutase pharmaceutical preparation, and vitamin C -- a relative -- a compound and vitamin E -- a relative -- a compound and a cysteine -- a relative -- a compound, reduced glutathione, peroxidase pharmaceutical preparation, and the antiulcer drug characterized by adding one kind or two or more kinds in a crude drug.

[Claim 10] cystathionine and a taurine -- a principal component -- carrying out -- a serine, glutamic acid, a glutamine, a glycine, an alanine, beta amino iso butyric acid, carnosine, superoxide dismutase pharmaceutical preparation, and vitamin C -- a relative -- a compound and vitamin E -- a relative -- a compound and a cysteine -- a relative -- the food additive which one kind or two or more kinds in a compound, reduced glutathione, peroxidase pharmaceutical preparation, and a crude drug are added, and has an antiulcer action.

[Claim 11] a pit viper -- the radical elimination agent which consists of an extract.

[Claim 12] a pit viper -- the radical elimination agent containing an extract.

[Claim 13] a pit viper -- the food additive which contains an extract and has a radical elimination operation.

[Claim 14] a pit viper -- the food which contains an extract and has a radical elimination operation.

[Claim 15] a pit viper -- the radical elimination agent which consists of desiccation powder.

[Claim 16] a pit viper -- the radical elimination agent containing desiccation powder.

[Claim 17] a pit viper -- the food additive which contains desiccation powder and has a radical elimination operation.

[Claim 18] a pit viper -- the food which contains desiccation powder and has a radical elimination operation.

[Claim 19] a pit viper -- the antiulcer drug which consists of an extract.

[Claim 20] a pit viper -- the antiulcer drug containing an extract.

[Claim 21] a pit viper -- the food additive which contains an extract and has an antiulcer action.

[Claim 22] a pit viper -- the food which contains an extract and has an antiulcer action.

[Claim 23] a pit viper -- the antiulcer drug which consists of desiccation powder.

[Claim 24] a pit viper -- the antiulcer drug containing desiccation powder.

[Claim 25] a pit viper -- the food additive which contains desiccation powder and has an antiulcer action.

[Claim 26] a pit viper -- the food which contains desiccation powder and has an antiulcer action.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] A radical elimination operation of cystathionine and taurine mixture

[Drawing 2] The blood stream with time before and behind ischemia-reperfusion

[Drawing 3] The comparison of a gastric-mucosa trauma defense operation

[Drawing 4] The gastric-mucosa trauma defense operation compared in the amount of content cystathionine

[Drawing 5] a pit viper -- the photograph which replaces the drawing in which the effectiveness of gastric-mucosa trauma defense of an extract is shown

[Drawing 6] The pharmacology moving state in plasma

[Translation done.]

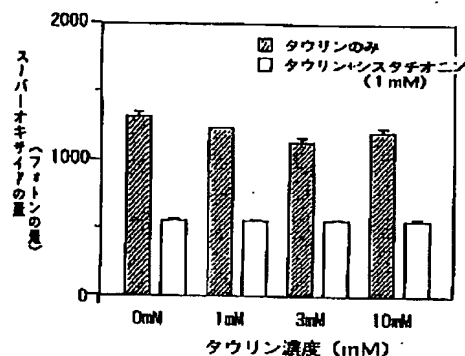
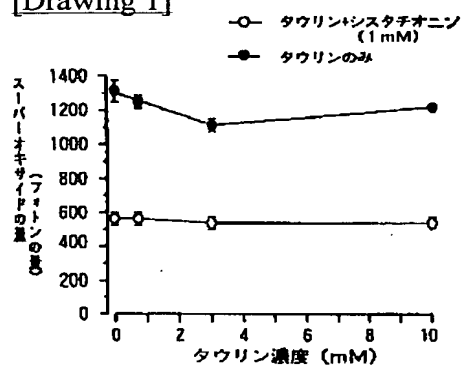
* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

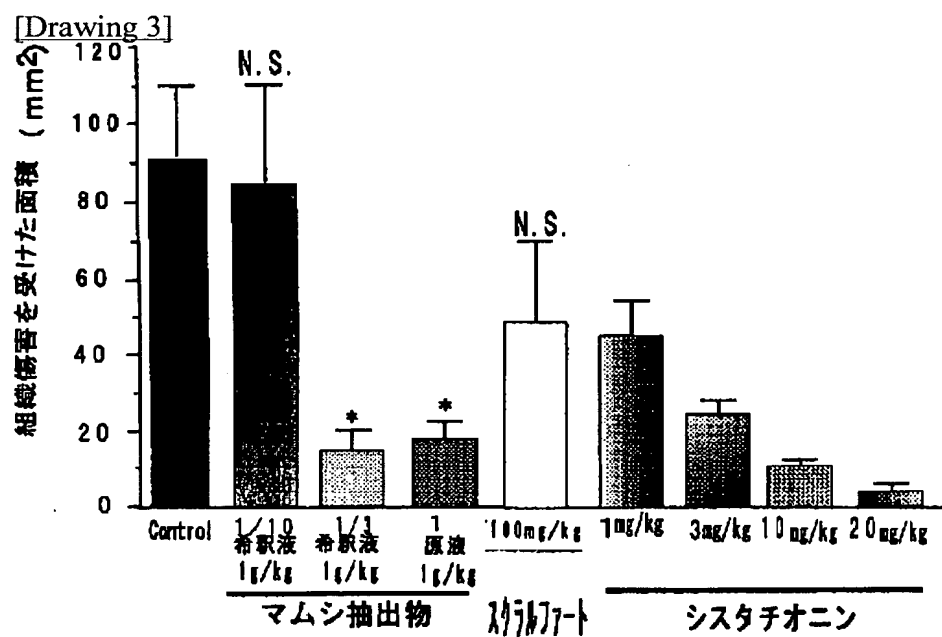
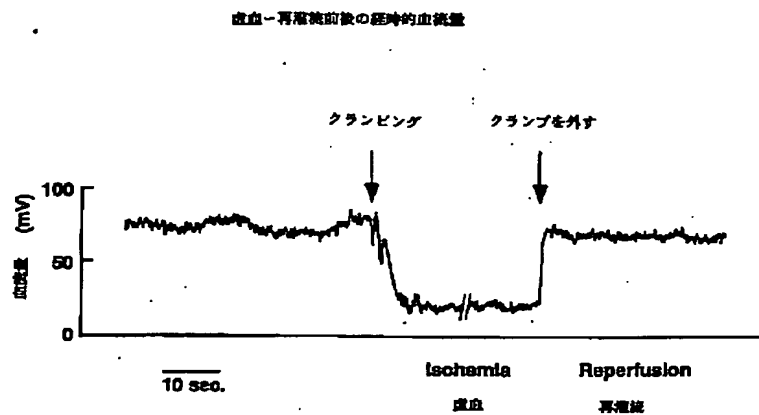
1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DRAWINGS

[Drawing 1]

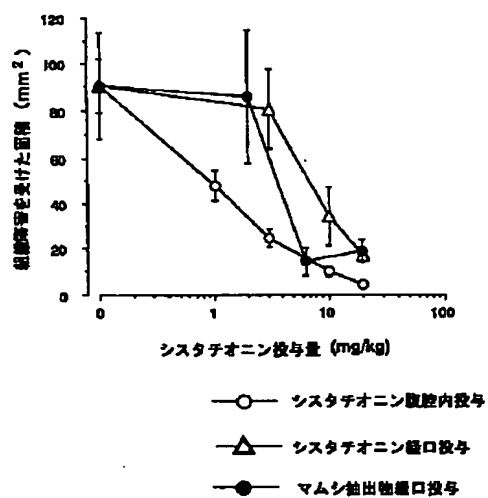


[Drawing 2]

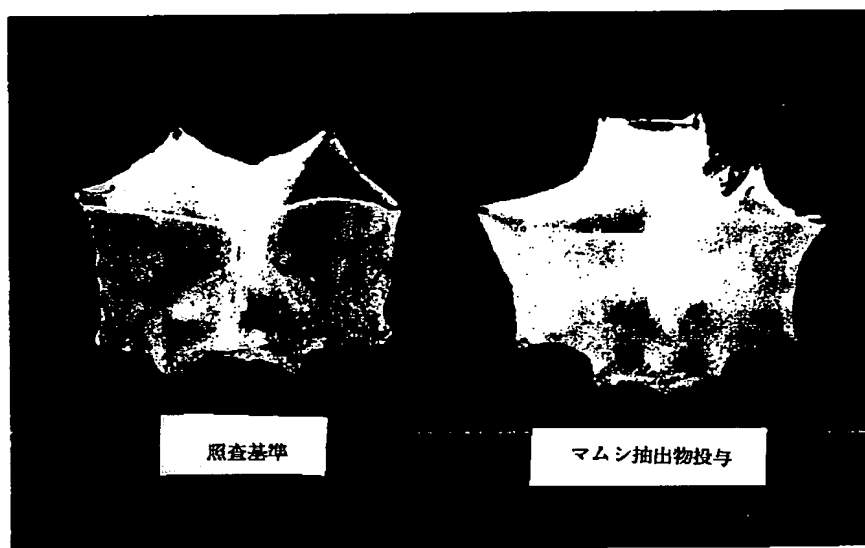


胃粘膜組織傷害防御作用の比較

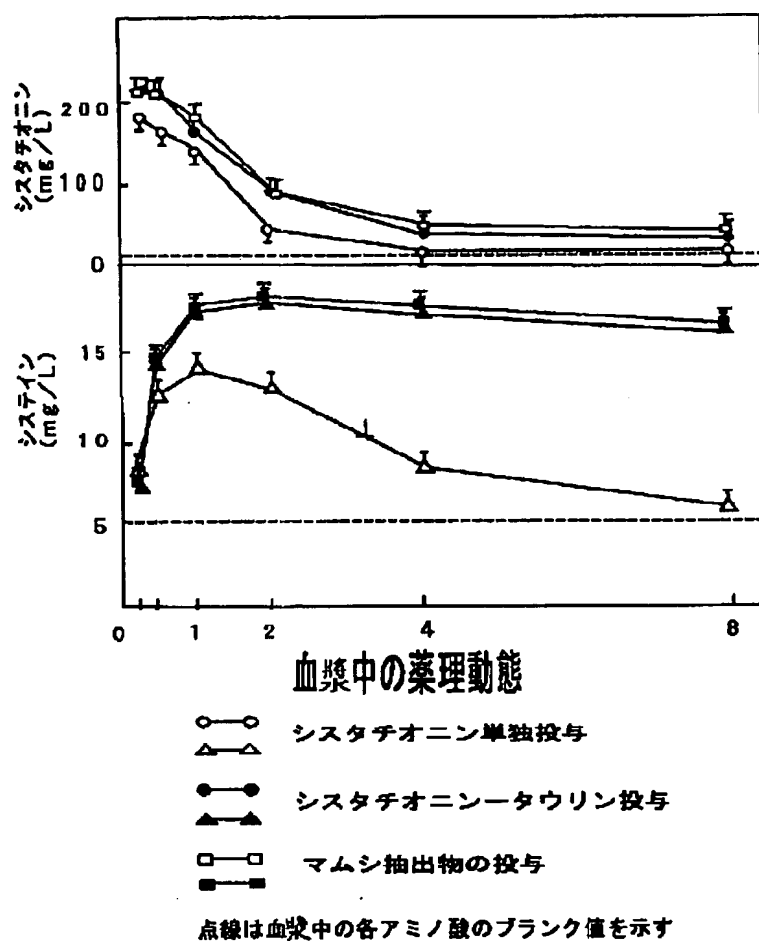
[Drawing 4]



[Drawing 5]



[Drawing 6]



[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-7553

(43) 公開日 平成10年(1998) 1月13日

(51) Int. Cl. ⁴	識別記号	片内整理番号	P I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/195	A E D		A 6 1 K 31/195	A E D
A 2 3 L 1/30			A 2 3 L 1/30	A
1/305			1/305	
A 6 1 K 31/365			A 6 1 K 31/365	
31/375	A C L		31/375	A C L

審査請求 未請求 請求項の数26 O L (全 8 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平9-64348

(22) 出願日 平成9年(1997) 3月18日

(31) 優先権主張番号 特願平8-64021

(32) 優先日 平8(1996) 3月21日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 594163986

陶隆酒製造株式会社

東京都台東区根岸2丁目17番1号

(72) 発明者 伊藤 忠雄

鳥取県西伯郡西伯町東町55

(72) 発明者 和田 孝一郎

鳥取県米子市目久美町214-1

(74) 代理人 弁理士 松原 伸之 (外2名)

(54) 【発明の名称】 生体内ラジカル消去剤及び抗潰瘍剤

(57) 【要約】

【課題】工業的大量生産が困難であり、極めて高価なシスタチオンに対し、ラジカル関与の疾病に、治療薬としてのみならず、予防薬として日常的に摂取できることが望ましい。従って、その投与量を低く抑さえつつも持続性を有し、安価で安全なラジカル消去剤及び抗潰瘍剤若しくはそのような効果を有する食品としてそれらが提供されることが求められていた。

【課題を解決するための手段】マムシ抽出物を主成分とし又はシスタチオン及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリクアシッド、カルノシン等のうち一種類または、複数種類を添加する。

(2)

特開平10-7553

1

2

【特許請求の範囲】

【請求項1】シスタチオンin及びタウリンからなるラジカル消去剤。

【請求項2】シスタチオンin及びタウリンを有効成分とするラジカル消去剤。

【請求項3】シスタチオンin及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリクアシッド及びカルノシンのうち一種類または、複数種類を混合してなるラジカル消去剤。

【請求項4】シスタチオンin及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリクアシッド、カルノシン、スーパー・オキシジスムターゼ製剤、ビタミンC類縁化合物、ビタミンE類縁化合物、システイン類縁化合物、還元型グルタチオン、ペルオキシダーゼ製剤、生薬のうち一種類または、複数種類が添加されることを特徴とする生体内ラジカル消去剤

【請求項5】シスタチオンin及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリクアシッド、カルノシン、スーパー・オキシジスムターゼ製剤、ビタミンC類縁化合物、ビタミンE類縁化合物、システイン類縁化合物、還元型グルタチオン、ペルオキシダーゼ製剤、生薬のうち一種類または、複数種類が添加され、生体内ラジカル消去作用を有する食品添加物。

【請求項6】シスタチオンin及びタウリンからなる抗潰瘍剤。

【請求項7】シスタチオンin及びタウリンを有効成分として含有する抗潰瘍剤。

【請求項8】シスタチオンin及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリクアシッド及びカルノシンのうち一種類または、複数種類を混合してなる抗潰瘍剤。

【請求項9】シスタチオンin及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリクアシッド、カルノシン、スーパー・オキシジスムターゼ製剤、ビタミンC類縁化合物、ビタミンE類縁化合物、システイン類縁化合物、還元型グルタチオン、ペルオキシダーゼ製剤、生薬のうち一種類または、複数種類が添加されることを特徴とする抗潰瘍剤。

【請求項10】シスタチオンin及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリクアシッド、カルノシン、スーパー・オキシジスムターゼ製剤、ビタミンC類縁化合物、ビタミンE類縁化合物、システイン類縁化合物、還元型グルタチオン、ペルオキシダーゼ製剤、生薬のうち一種類または、複数種類が添加され、抗潰瘍作

用を有する食品添加物。

【請求項11】マムシ抽出物からなるラジカル消去剤。

【請求項12】マムシ抽出物を含有するラジカル消去剤。

【請求項13】マムシ抽出物を含有し、ラジカル消去作用を有する食品添加物。

【請求項14】マムシ抽出物を含有し、ラジカル消去作用を有する食品。

【請求項15】マムシ乾燥粉末からなるラジカル消去剤。

【請求項16】マムシ乾燥粉末を含有するラジカル消去剤。

【請求項17】マムシ乾燥粉末を含有し、ラジカル消去作用を有する食品添加物。

【請求項18】マムシ乾燥粉末を含有し、ラジカル消去作用を有する食品。

【請求項19】マムシ抽出物からなる抗潰瘍剤。

【請求項20】マムシ抽出物を含有する抗潰瘍剤。

【請求項21】マムシ抽出物を含有し、抗潰瘍作用を有する食品添加物。

【請求項22】マムシ抽出物を含有し、抗潰瘍作用を有する食品。

【請求項23】マムシ乾燥粉末からなる抗潰瘍剤。

【請求項24】マムシ乾燥粉末を含有する抗潰瘍剤。

【請求項25】マムシ乾燥粉末を含有し、抗潰瘍作用を有する食品添加物。

【請求項26】マムシ乾燥粉末を含有し、抗潰瘍作用を有する食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はマムシ抽出物又はシスタチオンin及びタウリンを主成分とし、生体内において有効にラジカル消去作用及び抗潰瘍作用を奏する物質に関する。

【0002】

【従来の技術】ラジカルとは不対電子を1つ又はそれ以上有する活性酸素等をいう。活性酸素は、生体内においてウィルスや癌細胞の除去に重要な役割を果たす一方で、その過剰な生成は膜や組織を攻撃し各種疾患を誘発する。現在ラジカルが関与するとされる病態、疾患として、動脈硬化、脳梗塞、脳虚血—再灌流障害、消化器系虚血—再灌流障害、潰瘍、悪性腫瘍、化学性発ガン、バラコート中毒、糖尿病、てんかん、老化等が報告されている。

【0003】生体は、生成される第一のラジカルであるスーパーオキシドを消去する特異的な酵素として、SOD（スーパーオキシド・ジスムターゼ）を備える。そのため従来からラジカル消去剤として、SOD製剤や関連物質（特開平2-75805）の臨床応用が検討されてきた。

(3)

特開平10-7553

3

【0004】しかし、SOD製剤においては経口投与ができないこと、また静脈投与では生体内半減期が数分であること、アナフィラキシーショックの可能性があること、さらにスーパーオキシドの消去にあたっては過酸化水素の発生が常に伴うという欠点があった。

【0005】そこで、本願発明者らは、生体内物質であるシスタチオニンに着目し、経口投与可能で、アナフィラキシーショック等の心配がなく、かつ他のラジカルを生成することなく作用し、生体内半減期がSODよりも長いという、ラジカル消去剤及び抗潰瘍剤を提案している（特開平8-169822）。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】このようにシスタチオニンは、SOD製剤等の他のラジカル消去剤に比して優れた作用を有するものであるが、効果的にラジカルを消去するためには大量の投与を要する。

【0007】しかし、シスタチオニンは、工業的大量生産が困難であり、極めて高価である。一方、上述のようにラジカルは多様な疾患に関与するため、治療薬としてのみならず、予防薬として日常的に摂取できることが望ましい。

【0008】従って、その投与量を低く抑えつつも持続性を有し安価で安全なラジカル消去剤若しくは抗潰瘍剤又はそのような効果を有する食品が求められていた。

【0009】

【課題を解決するための手段】マムシは、古くより単独で、あるいは他の漢方薬に配剤され補血・滋養・強壯の目的で日常的に広く利用されてきた。

【0010】本願発明者らは、マムシに特異的に含まれるシスタチオニン及びタウリンが共働的にラジカル消去作用及び抗潰瘍作用を奏することに着目し、優れたラジカル消去作用を奏しながらも低い投与量で持続性が高い、シスタチオニン及びタウリンからなるラジカル消去剤、抗潰瘍剤等を提供する。

【0011】さらには、日常的に摂取ができ、安価で安全なマムシ抽出物又はマムシ乾燥粉末からなるラジカル消去剤、食品添加物、食品、抗潰瘍剤等を有する食品を提供するものである。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明に係るシスタチオニン及びタウリン又はマムシ抽出物のラジカル消去作用、抗潰瘍作用について以下の実施例に基づいて詳細に説明する。

【0013】実験1 キサンチン-キサンチンオキシダーゼ（X-XOD）系由来のスーパーオキシドに対する消去作用（ウミホタルシフェリン誘導体（MCLA）法）

キサンチンオキシダーゼ（X-XOD）にキサンチン（X）を添加すると、キサンチンの濃度に比例してスーパーオキシドが生成される。生成されたスーパーオキシドは、スーパーオキシド反応蛍光試薬であるMC

4

LA（2-methyl-6-[p-methoxyphenyl]-3,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-3-one hydrate）の化学蛍光強度により、フォトン量の重としてスーパーオキシドの量を表すことができる。

【0014】キサンチンオキシダーゼ（10mU/ml）存在下に、キサンチン30μMを添加してスーパーオキシドを生成させる。この系において、タウリンのみを添加した場合とシスタチオニンとタウリンを混合して添加した場合とを比較し、添加したシスタチオニン、タウリンの量とスーパーオキシドの量の関係を図1に示した。

【0015】図1に示すように、タウリンのみを添加した状態（タウリン1mM～10mM）を基準とすると、タウリンにシスタチオニンを添加した場合のスーパーオキシドの量は全混合比（タウリン+シスタチオニン）において、スーパーオキシド量を減少させた。

【0016】実験2 虚血-再灌流傷害時における胃粘膜組織障害防御作用

虚血-再灌流傷害とは、血流量の低下後、血流の再灌流時に新たに生じる細胞傷害である。そのメカニズムは、血流の途絶から再供給された酸素が活性酸素（ラジカル）となり、細胞膜に存在するリン脂質の過酸化反応を連鎖的に惹起して過酸化脂質を生成する。この過酸化脂質が直接的あるいは間接的に細胞を傷害に至らしめるというものである。ラジカルによる傷害は生体膜すべてに共通し、その傷害が胃粘膜細胞に及ぶ場合にはびらん、潰瘍を生じる。

【0017】本実験では、マムシ抽出物並びにシスタチオニン及びタウリンの混合物について、虚血-再灌流によるラットの胃粘膜障害防御作用を示すことにより、そのラジカル消去作用及び抗潰瘍作用を明らかにする。

【0018】本実験における動物は、18時間絶食のwistar系雄性ラット（10週令、280～300g）をペントバルビタール麻酔下で開腹し、腹腔動脈を露出したのち、30分間クリッピングして虚血の状態とした。その後クランプを外して60分間再灌流させた後、鼠血致死後胃を摘出し、ラット急性胃粘膜病変モデルを作製した。30分間の虚血状態は、胃の漿膜面にバイオリサーチセンター社製のレーザー血流計（BR-L-100）を接着し、血流を測定することによって確認した。クランプ前後の血流の変化を図2に示す。図2に示されるようにクランプをすることにより血流量は低下し、クランプを外すことにより血流量は回復した。よって虚血-再灌流の状態は確実に再現された。このラット急性胃粘膜病変モデルについて、胃粘膜の組織傷害面積の画像解析による測定及び状態観察を行った。

【0019】予め、各ラット群に各一定量のマムシ抽出物、シスタチオニン及びタウリン、シスタチオニン、ス

(4)

特開平10-7553

5

クラルファートをそれぞれ経口投与した後、前記急性胃粘膜病変モデルを作成した。対照薬として胃粘膜保護剤であるスクラルファートについて、さらに発明者らによってすでにラジカル消去作用を有することが明らかにされているシスタチオニンについて、並行して実験を行った。

【0020】図3にはマムシ抽出物の胃粘膜傷害防御作用を示す。

【0021】本項におけるマムシ抽出物は、マムシ

(生)の重量に対し10倍の水で70℃120分間抽出*10

マムシ (*Akistrodon blanchoffii*) 中のアミノ酸組成

	$\mu\text{mol s/g (wt)}$
シスタチオニン	14.48
タウリン	85.741
セリン	3.99
グルタミン酸	4.86
グルタミン	1.21
グリシン	4.08
アラニン	2.33
β -アミノアラニン	1.45
カルノシン	8.62

6

*1. 冷却後マムシを濾過にて除く。それを所望の濃度となるまで減圧濃縮して得たものである。本実験においては重量が1/6となるまで濃縮した。一方、マムシ粉末はマムシ全体を凍結乾燥(含水率0.005は%以下)を行い粉末にしたものである。

【0022】マムシ抽出物について、主に含まれるアミノ酸の種類と含有率をアミノ酸分析結果に基づき表1に示す。

【0023】

【表1】

マムシ (*Akistrodon blanchoffii*) 中のアミノ酸組成

Sulfur amino Acids, 8-35-42

マムシ抽出物の投与は、マムシExtract(本実験で使用したExtract1gはマムシ個体6gに相当)原液、3倍希釈液、10倍希釈液をラットに1g/kgとなるように、麻酔開始10分前に経口で行った。スクラルファートは100mg/kgを懸濁液として投与した。画像解析により測定した胃粘膜組織傷害面積を各試料投与量について図3に示した。

【0024】図4にはシスタチオニン単独で腹腔内投与した場合、シスタチオニン単独で経口投与した場合、マムシ抽出物を経口投与した場合の胃粘膜組織傷害面積を、シスタチオニン量を基準として示した。本実験で使

用したマムシ抽出物のシスタチオニン含有量は約19.31mg/gであった。

【0025】また図5には、マムシ抽出物を投与した場合の胃粘膜組織傷害の抑制効果を示す組織標本の写真を示す。

【0026】図3に示すようにマムシ抽出物10倍希釈では照査基準に比べ胃粘膜傷害面積の減少は認められなかったが、原液及び3倍希釈液においては有意な効果を示した。特に図4で示すように3倍希釈液(シスタチオニン量6mg)ではシスタチオニン(6mg)単独を経口投与した場合よりの胃粘膜傷害面積を低く抑ええるという顕著な効果を示している。経口投与で有意な効果

を奏することは、日常的に摂取するためには有利な効果

といえる。また、図5の通り照査基準である急性胃粘膜病変モデルに比してマムシ抽出物を投与したラットの胃粘膜組織は出血もほとんどなく、胃粘膜組織傷害防御に優れた作用を示した。

【0027】実験3 血漿中の薬理動態

マムシ抽出物に含まれるシスタチオニンの生体内半減期と、シスタチオニン単独で投与した場合の生体内半減期を比較した。マムシ抽出物中にはシスタチオニンの他にタウリンを特徴的に含むことから、シスタチオニン単独、マムシ抽出物並びにシスタチオニン及びタウリン複合物において比較した。

【0028】本実験はラットを用いて血漿中のシスタチオニン排泄速度、代謝されるシステインの濃度変化を比較した。ここでシステインの代謝濃度を計測したのは、シスタチオニンは、生体内においてはシスタチオニナーリアーゼによってシステインに代謝されるからである。

【0029】本実験では、雄性wistar系ラットを絶食させて用いた。ラットにシスタチオニンのみ100mg/kg、シスタチオニン100mg/kg及びタウリン100mg/kgの混合物、マムシ抽出物5.18g/kg(含有シスタチオニン量100mg)を各々、腹腔内に投与し、投与後15、30、60、120、240及び480分後に採血し、血清を遠心分離(350

(5)

特開平10-7553

7

0 rpm, 20分間)し、該血清0.2 mlに2%スルホザルチル酸0.6 mlを混合し遠心分離(4000 rpm, 20分間)し、上清0.4 mlのアミノ酸を835型日立高速アミノ酸分析計により測定した。薬理動態のデータ分析は非線形最小二乗法により行った。

【0030】図6に示すように、シスタチオンin単独投与の生物学的半減期は、 71.2 ± 12.5 分。マムシ抽出物投与の場合4.14 ± 0.52時間、シスタチオンin及びタウリンの混合物の場合4.12 ± 0.82時間であった。このようにマムシ抽出物並びにシスタチオンin及びタウリン混合物は、長時間生体内に留まり、シスタチオンinから代謝されるシステインも持続的に高濃度を維持する。この効果によって、少量の投与であっても日常的に継続的に投与することで生体内のラジカル消去作用を高く維持し続けることが可能となる。

【0031】本発明に係る生体内ラジカル消去剤及び抗潰瘍剤は、液体又は固体の製剤上の補助成分、例えば賦形剤、結合剤、希釈剤等と混合してなるものであり、粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、注射剤など任意の剤形で経口的、非経口的に投与することが可能である。

【0032】一方、ラジカル消去作用を有する食品は、*シスタチオンinの急性毒性試験の結果

投与経路	: LD50
経口	: 10 mmol/kg (2200 mg/kg) 以上
腹腔内	: 10 mmol/kg (1250 mg/kg) 以上
マムシ抽出物の急性毒性試験の結果	
投与経路	: LD50
経口	: 2800 mg/kg 以上
腹腔内	: 1300 mg/kg 以上

本急性毒性試験はDDY系雄マウス(体重35~40グラム)を用いて経口投与及び腹腔内投与について、投与後14日間(112日)の観察を行いLD50(mmol/kg (mg/kg))を求めた。ここでLD50値として記載したが、実際に観察中死亡したマウスは両実験ともに1匹も確認できなかった。

【0036】

【発明の効果】シスタチオンinは、生体内物質であることから毒性、アナフィラキシーショック等の心配がないこと、生体内半減期が長いこと、また経口投与が可能であること、また新たなラジカルを発生しないことから他の任意のラジカル消去剤と組み合わせることができるという優れたラジカル消去剤である。

【0037】本願発明は、シスタチオンinの優れたラジカル消去作用等を奏しながらも、タウリンをはじめ、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリクアシッド、カルノシン等のマムシに含まれるアミノ酸と相乗的に作用し、シスタチオンinよりも持続性に優れたラジカル消去剤、抗潰瘍剤、ラジカル消去及び抗潰瘍作用を有する食品を提供す

8

* 日常的に摂取するために、粉末、錠剤若しくは液体の形態において、各種食品添加物として利用する他、ふりかけ、煙草、健康茶、菓子類、薬効酒等に配合し、各種食品に関する製品として提供することができる。

【0033】マムシ抽出物の投与量は、年齢、体重、症状等により適宜増減するが経口的には通常、成人(60 kg)でシスタチオンin含有量に換算して1日40 mg ~ 80 mg程度が望ましく、通常約60 mg程度が投与される。日常的に予防として服用する場合には10 mg ~ 50 mg程度でもよい。ここでシスタチオンin量として表したのは、マムシ抽出物はマムシの個体差によってそのシスタチオンin含有量が著しく異なるためである。マムシ抽出物として投与する場合にはそのマムシ抽出物のシスタチオンin含有量及びその摂取態様(マムシ抽出物として、食品として、食品添加物として)に対応して摂取量を設定することが好ましい。

【0034】本発明にかかるラジカル消去剤の有効成分となるシスタチオンin及びマムシ抽出物はほとんど毒性がなくマウスを使用した急性毒性試験の結果は次の通りである。

【0035】

るものである。

【0038】また、その持続性により投与量を低く抑さえ、安価かつ安全であり、薬として又は食品として日常的に摂取できる。

【0039】ラジカルが関与する疾病の数はさらに増加するものと考えられ、その種類は老化等の疾病とはいえない日常的なものにまで及んでいる。本願は、シスタチオンin製剤のみの投与に比して、ラジカルが誘起する傷害を日常的な食生活において予防又は防衛できるという有利な効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図1】シスタチオンin及びタウリン混合物のラジカル消去作用

【図2】虚血-再灌流前後の経時的血流量

【図3】胃粘膜傷害防衛作用の比較

【図4】含有シスタチオンin量で比較した胃粘膜傷害防衛作用

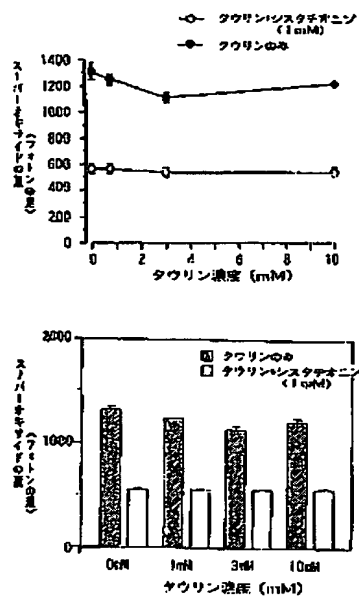
【図5】マムシ抽出物の胃粘膜傷害防衛の効果を示す図面に代わる写真

【図6】血漿中の薬理動態

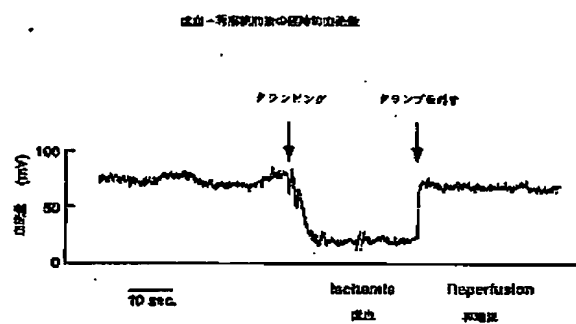
(6)

特開平10-7553

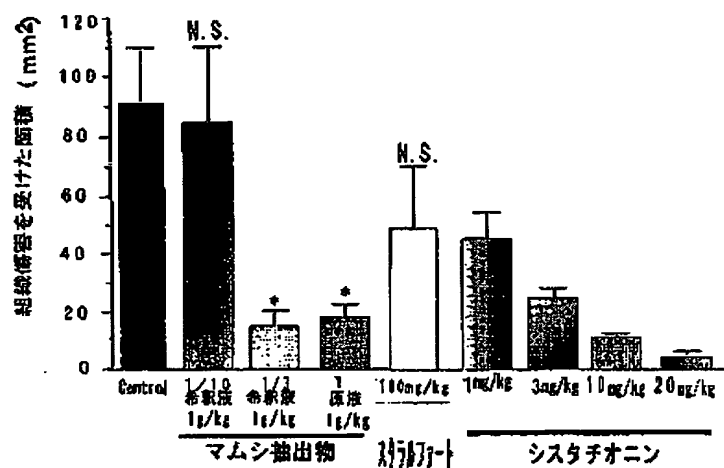
【図1】



【図2】



【図3】

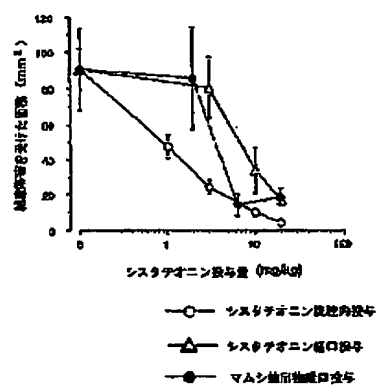


胃粘膜組織傷害防御作用の比較

(7)

特開平10-7553

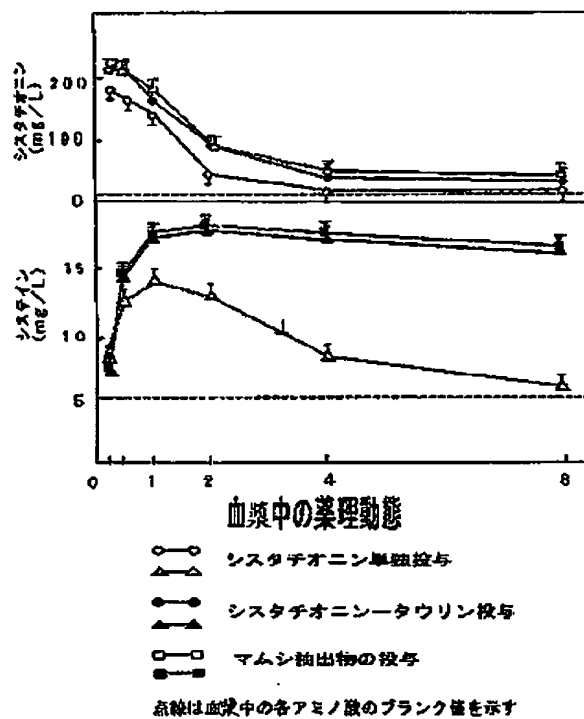
【図4】



【図5】



【図6】



(8)

特開平 1 0 - 7 5 5 3

フロントページの続き

(51)Int.Cl.
A 6 1 K 31/415
35/58

識別記号 片内整理番号

F I
A 6 1 K 31/415
35/58

技術表示箇所

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☒ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.